

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 18, 1980, pp. 227–232

Eine gaschromatographische Methode zur Bestimmung von Carbamazepin, Phenobarbital, Phenytoin und Primidon im gleichen Serumextrakt

Von W. R. Külpmann¹⁾

*Institut für Klinische Chemie (geschäftsf. Direktor Prof. Dr. Dr. J. Büttner)
Medizinische Hochschule Hannover*

(Eingegangen am 16. Juli/20. Oktober 1979)

Zusammenfassung: Es wird ein gaschromatographisches Verfahren zur Bestimmung der Antiepileptica Carbamazepin, Phenobarbital, Phenytoin und Primidon im gleichen Serumextrakt beschrieben. 1 ml Serum wird nach Zusatz von gesättigter Ammoniumsulfatlösung mit Chloroform extrahiert. Die organische Phase wird abgetrennt, eingedampft und zur gaschromatographischen Analyse ohne Derivatbildung in 100 µl Ethylacetat/Eisessig (100 ml + 1 ml) aufgenommen. Als stationäre Phase für die Bestimmung von Phenobarbital und Phenytoin wird SP 2250 DA benutzt, für die Messung von Carbamazepin und Primidon Dextsil 300, jeweils unter isothermen Bedingungen. Der Variationskoeffizient für die Präzision von Tag zu Tag schwankt zwischen 4,3 und 7,5%, die Wiederfindung beträgt 93,5 bis 111%. Die Spezifität wird geprüft durch Vergleich mit den relativen Retentionszeiten von etwa 100 verschiedenen Arzneimitteln. Die Methode wurde mit entsprechenden enzymimmunologischen Verfahren verglichen.

A gas-chromatographic method for the determination of carbamazepine, phenobarbital, phenytoin and primidone in the same extract of serum

Summary: A gas-chromatographic method for the determination of the antiepileptic drugs carbamazepine, phenobarbital, phenytoin and primidone in the same extract of serum is presented. Saturated ammonium sulfate solution is added to 1 ml serum, followed by extraction with chloroform. The organic phase is separated and evaporated. The residue is dissolved in 100 µl ethylacetate/acetic acid (100 ml + 1 ml) for gas-chromatography. The gas-chromatographic determination is carried out under isothermal conditions without derivatisation, using SP 2250 DA as stationary phase for the determination of phenobarbital and phenytoin, and Dextsil 300 for the determination of carbamazepine and primidone. The coefficient of variation for the precision from day to day ranges from 4.3 to 7.5%, the recovery from 93.5 to 111%. The specificity was proven by comparison with the relative retention times of about 100 drugs. The method is compared with the corresponding EMIT-tests.

Einführung

Die Bedeutung der Konzentrations-Bestimmung von Antiepileptica im Serum für die Therapie der Anfallsleiden ist inzwischen weitgehend anerkannt. Die Analysen werden vorwiegend mit Hilfe der Gaschromatographie und in zunehmendem Maße mittels des homogenen Enzymimmunoassay (EMIT)²⁾ durchgeführt. Wegen des vergleichsweise langsamen Meßverfahrens können nur

solche gaschromatographischen Verfahren an die Praktikabilität der EMIT-Tests heranreichen, welche die wichtigsten Anticonvulsiva gleichzeitig zu bestimmen erlauben (1–11), denn die EMIT-Tests gestatten nur die Bestimmung jeweils eines einzelnen Pharmakons, während häufig zur Behandlung verschiedene Antiepileptica gleichzeitig eingesetzt werden.

Die Praktikabilität der gaschromatographischen Verfahren läßt sich mittels Anwendung mechanisierter Probenaufgabesysteme und rechnerunterstützter Chromatogrammauswertung noch steigern. Der Einsatz dieser Hilfsmittel ist wesentlich erleichtert, wenn die gaschromatographische Analyse isotherm durchgeführt wird und die interessierenden Substanzen sich ohne Derivatbil-

¹⁾ Auszugsweise vorgetragen auf der gemeinsamen Jahrestagung der Österreichischen Gesellschaft für Klinische Chemie und der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie, 29.–31. März 1979, Salzburg.

²⁾ Hersteller: Syva, Palo Alto, Ca. U.S.A. Vertrieb in der Bundesrepublik Deutschland: Fa. E. Merck, Darmstadt.

derung, insbesondere ohne Methylierung bestimmen lassen. Das im folgenden beschriebene gaschromatographische Verfahren gestattet die Bestimmung von Carbamazepin, Phenobarbital, Phenytoin und Primidon im gleichen Serumextrakt unter isothermen Bedingungen ohne Derivatbildung mittels Flammenionisationsdetektor. Es ist deshalb bei entsprechender Gaschromatographie-Ausrüstung ähnlich praktikabel wie die EMIT-Tests.

Material und Methodik

Material

Carbamazepin (5H-dibenz[b,f]azepin-5-carboxamid) M_r 236,3 (Geigy, Wehr)
 Phenobarbital (5-Ethyl-5-phenylbarbitursäure) M_r 232,2 (Bayer, Leverkusen)
 Phenytoin (5,5-Diphenylhydantoin) M_r 252,3 (Desitin, Hamburg)
 und Primidon (5-Ethylidihydro-5-phenyl-4,6-(1H,5H)-pyrimidin-dion) M_r 218,3 (Desitin, Hamburg)

wurden von den angegebenen Firmen kostenlos zur Verfügung gestellt. Die Substanzen wurden in Ethylacetat/Eisessig (100 ml + 1 ml) gelöst (Konzentration 1 g/l). Die Lösung ist bei 4 °C mindestens 3 Monate haltbar.

Natriumsulfat p.a., Ammoniumsulfat p.a. und Eisessig p.a. wurden wie von Merck, Darmstadt geliefert, verwendet. Ethylacetat und Chloroform wurden vor Gebrauch destilliert.

Glasgeräte

1. Schliffzentrifugenröhrchen mit spitzem Boden, Inhalt 25 ml.
2. Glassäulen 12 cm lang, 1 cm Innendurchmesser mit eingeschmolzener Glasfritte ohne Hahn.

Gaschromatographie: Gaschromatograph der Fa. Varian, Darmstadt, Modell 1440 und 2800, jeweils mit Flammenionisationsdetektor.

Trärgas: Nachgereinigter Stickstoff 35 ml/min

Brenngase: Nachgereinigter Wasserstoff und synthetische Luft

Glassäulen:

- 1) 1,8 m lang, 2 mm Innendurchmesser gefüllt mit 3% SP 2250 DA auf Supelcoport 100–120 mesh (Supelco, Bellefonte, USA)
Säulenofentemperatur: 230 °C
- 2) 1,2 m lang, 2 mm Innendurchmesser gefüllt mit 3% Dexsil 300 auf Supelcoport 100–120 mesh (Supelco, Bellefonte, USA)
Säulenofentemperatur: 210 °C

Die Glassäulen wurden vor dem Füllen silikonisiert. Nur die Detektorseite wurde mit silikonisierter Glaswolle verschlossen. Insbesondere die Dexsil 300-Säule bedurfte vor der Verwendung einer sorgfältigen Konditionierung:

1. 30 min Raumtemperatur Trärgas N_2 35 ml/min
2. 3 °C/min auf 150 °C Trärgas N_2 35 ml/min
3. 60 min bei 220 °C Trärgas N_2 5 ml/min
4. abkühlen auf 40 °C, dann ständig N_2 35 ml/min
5. 3 °C/min auf 200 °C Endtemperatur über Nacht
6. abkühlen auf 40 °C
7. 1 °C/min auf 310 °C, Endtemperatur über Nacht
8. abkühlen auf 40 °C
9. 1 °C/min auf 325 °C, Endtemperatur über Nacht

Methodik

1 ml Serum wird mit 2 ml kalt gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt. Es wird eine Minute mit 5 ml Chloroform ausgeschüttelt. Nach Zentrifugation (5 min bei 3000 g) wird die organische Phase abpipettiert und mittels Passage über die mit etwa 3 g Natriumsulfat gefüllte Glassäule getrocknet. Das Eluat wird aufgefangen. Die Extraktion wird zweimal wiederholt. Die vereinigten Eluate werden eingedampft. Der Rückstand wird in 100 µl Ethylacetat/Eisessig (100 ml + 1 ml) gelöst und jeweils 2 µl an den beiden Säulen injiziert. Die mit SP 2250 DA gefüllte Säule wird für die quantitative Bestimmung von Phenobarbital und Phenytoin benutzt, die Dexsil 300-haltige Säule für die Carbamazepin- und Primidonanalyse. Aus der Größe der Peakhöhen der Standards wird mittels der Gleichung der Regressionsgeraden die Konzentration des jeweiligen Antiepileptikums errechnet.

Ergebnisse

Präzision

Zur Bestimmung der Präzision in der Serie wurden jeweils 2 ml eines zufällig ausgewählten Serums mit dem betreffenden Pharmakon aufgestockt, so daß Konzentrationen im therapeutischen Bereich erhalten wurden (12).

Jeweils 1 ml der Probe wurde getrennt aufgearbeitet und analysiert. Die Variationskoeffizienten schwankten zwischen 3,5 und 4,4% (Tab. 1).

Die Präzision von Tag zu Tag wurde bestimmt mit Hilfe eines selbst hergestellten Kontrollserums, das an 13 Tagen jeweils einmal analysiert wurde. Die relative Standardabweichung betrug zwischen 4,3 und 7,5% (Tab. 2).

Tab. 1. Wiederfindung und Präzision in der Serie.

Substanz	Anzahl der Analysen	Sollwert (µmol/l)	Mittelwert \bar{x} (µmol/l)	Abweichung vom Sollwert (%)	Variationskoeffizient (%)
Carbamazepin	8	21,2	22,9	+ 8,0	3,5
Phenobarbital	8	86,1	85,9	– 0,3	4,4
Phenytoin	8	79,3	74,2	– 6,5	4,2
Primidon	9	22,9	25,4	+ 11,0	4,3

Tab. 2. Präzision von Tag zu Tag.

Substanz	Anzahl der Analysen	Sollwert (µmol/l)	Mittelwert \bar{x} (µmol/l)	Variationskoeffizient (%)
Carbamazepin	13	21,2	22,7	4,3
Phenobarbital	13	86,1	86,1	5,1
Phenytoin	13	79,3	78,6	4,3
Primidon	13	22,9	24,2	7,5

Richtigkeit und Spezifität

Wiederfindung

Die Wiederfindung wurde mit Hilfe von aufgestockten Sera ermittelt. Die prozentualen Abweichungen vom Sollwert lagen zwischen $-6,5$ und $+11\%$ (Tab. 1).

Patientenvergleich

Es wurden Patientensera mit der beschriebenen Methode und mit EMIT-Tests bestimmt. Es ergab sich eine befriedigende Übereinstimmung der Werte (13, 14).

Jeweils 1 Tablette oder Dragée bzw. 5 ml der folgenden Medikamente wurde in 10 ml Ethylacetat/Eisessig (100 ml + 1 ml) gelöst und die relative Retentionszeit der extrahierten Substanzen in den verschiedenen gaschromatographischen Systemen ermittelt. Auf diese Weise wird die Löslichkeit von Pharmakon und Tabletten-substanz in dem für die Aufnahme des Extraktes verwendeten Lösungsmittel in einem Schritt mitberücksichtigt. Andererseits mußte deshalb auf eine Angabe der geprüften Konzentration der Reinsubstanz verzichtet werden:

Acidum acetylosalicylicum	Mephenytoin
Acidum ascorbicum	Mesuximid
Acidum niflumicum	Methadon
Adipiodon (Methylglucaminsalz (5 ml))	Methamphetamin
Allopurinol	Methaqualon
Amidotrizoesäure (Methylglucaminsalz (5 ml))	Methotrexat
Aminophenazon	Methyldopa
Amitriptylin	Methalpentynol
Ampicillin	Methylstyryldibromhydantoin
Antazolin	Methypylon
Azapropazon	Miroton®
Benzbromaron	Modenol®
Bisacodyl	Morphin
Carbocromen	Neoplasmagel (5 ml)
Carbromal	Nicotinamid
Cetobemidon	Nitrazepam
Chlordiazepoxid	Nitrofurantoin
Chloroquin	Noramidopyrini methansulfonas natrium
Chlorpromazin	Norfenefrin
Chlorprothixen	Normethadon
Clofibrat	Oxazepam
Clomethiazol	Oxyphenbutazon
Codein	Paramethadion
Cyclophosphamid	Pethidin
Dextran (5 ml)	Phenformin
Dextromoramid	Pheniramin- <i>p</i> -amino-salicylat
2,2-Diethylallylacetamid	Phenprocoumon
Diazepam	Phenylbutazon
Digoxin	Prazepam
Diphenhydramin	Prednisolon
Doxepin	Probenecid
Ethinamat	Propmethazin
Ethosuximid	Propylhexedrin geb. an Phenobarbital
Fenetylin	Prothipendyl
Fluphenazin	Pyridylidion
Furosemid	Reserpin
Gentamycin	Spirocholacton
Glaferin	Sulfadiazin
Glibenclamid	Sulfametoxydiazin
Glutethimid	Sultiam
Haloperidol	Tetracyclin
Hyoscin-N-butylbromid	Thioridazin
Imipramin	Tilidin
Indometazin	Tolbutamid
Levorphanol	Triflupromazin
Levorphanoltartrat	Trimethadion
Meclozin	Valproinsäure

Wenn man die Retentionszeiten vergleicht, so könnte die Carbamazepinbestimmung gestört werden durch Prothipendyl, die von Phenobarbital durch Acetylsalicylsäure, Cyclophosphamid, Oxyphenbutazon und Normethadon, von Phenytoin durch Ascorbinsäure und Benzbromaron und von Primidon durch Doxepin, Imipramin und Triflupromazin. Auf Grund der geringen Serumkonzentrationen bei therapeutischer Dosierung brauchen von diesen Arzneistoffen nicht berücksichtigt zu werden: Doxepin, Imipramin, Normethadon, Prothipendyl und Triflupromazin. Die verbleibenden Pharmaka mit Ausnahme des Cyclophosphamid werden bei der Aufarbeitung abgetrennt. Mit der langwierigen Untersuchung der Störung durch Metabolite der Pharmaka wurde begonnen. Die Anticonvulsiva und ihre Metabolite, wie Phenylethylmalonsäurediamid und Carbamazepin-10,11-epoxid werden vollständig voneinander getrennt. Bei Aufarbeitung von pharmakafreien Sera werden keine störenden Peaks beobachtet. Die Anticonvulsiva, auch Carbamazepin, ergeben an der jeweiligen stationären Phase einen einzigen Gipfel ohne Hinweise auf Zersetzung. Typische Gaschromatogramme sind auf den Abbildungen 1–3 dargestellt.

Nachweisgrenze

Die Bestimmung der Nachweisgrenze für gaschromatographische Verfahren ist nicht einheitlich geregelt. Die häufig gemachte Angabe des Signal-Rauschen-Verhältnisses mit Hilfe von Reinsubstanzen ergibt zu günstige Werte, da die Verunreinigungen, die aus dem biologischen Ausgangsmaterial stammen, und die Verluste bei der Aufarbeitung nicht berücksichtigt werden. Die Messung von Leerproben ist nicht möglich, zumal die Retentionszeit im niedrigsten Konzentrationsbereich nicht genau festzulegen ist. Wir haben deshalb – einer Empfehlung der IFCC folgend (15) – angenommen, daß die Standardabweichung (s) bei niedriger Substanzkonzentration etwa der von Leerproben entspricht und den entsprechenden 3s-Bereich errechnet. Über die Größe des mittleren Leerwerts können wir keine Angaben machen; als Anhalt sind in der Tabelle 3 der Sollwert und der gefundene Wert gegenübergestellt.

Praktikabilität

Die Analyse einer Serumprobe in Bezug auf die 4 Substanzen erfordert etwa 2 Stunden. 20 Serumproben können in 10 Stunden analysiert werden. Davon entfallen etwa 8 Stunden auf die Durchführung der Gaschromatographie. Bei Verwendung von automatischem Probengeber und on-line Datenverarbeitung vermindert sich diese Zeit entsprechend. Isotherme Arbeitsweise und der Verzicht auf die Derivatbildung erleichtern diesen Rationalisierungsschritt. Nach der erforderlichen einmaligen Konditionierung der stationären Phase Dextsil 300, die an den meisten Geräten weitgehend

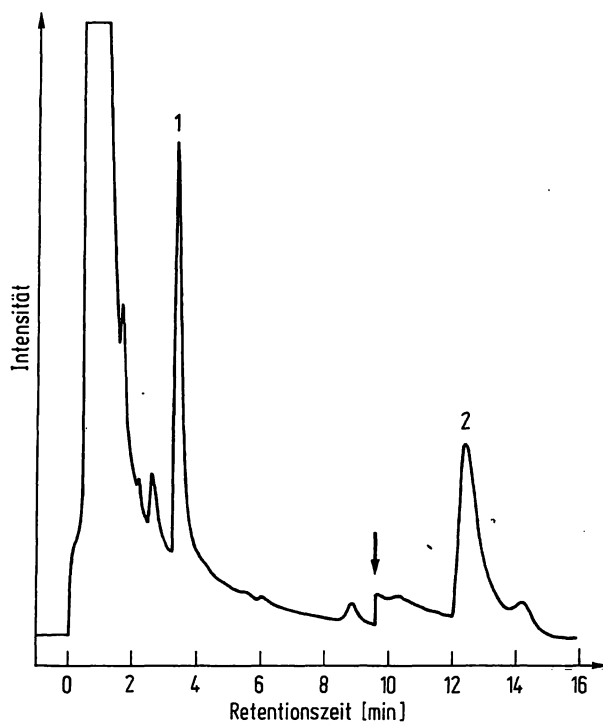


Abb. 1. Gaschromatogramm eines Serums von einem Patienten unter der Behandlung mit Phenobarbital und Phenytoin an SP 2250 DA. Die Konzentration an Phenobarbital (1) betrug $56 \mu\text{mol/l}$ (therapeutischer Bereich: $21,5\text{--}172,3 \mu\text{mol/l}$ (12)), an Phenytoin (2) $22 \mu\text{mol/l}$ (therapeutischer Bereich $19,8\text{--}99,1 \mu\text{mol/l}$ (12)).
↓: Einstellung einer größeren Empfindlichkeit.

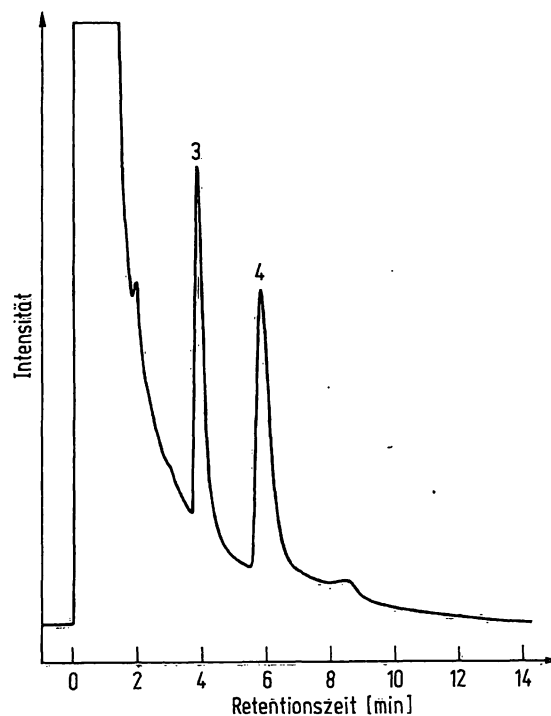


Abb. 3. Gaschromatogramm eines Serum von einem Patienten unter der Behandlung mit Primidon und Carbamazepin an Dexsil 300. Die Konzentration an Primidon (3) betrug $27,5 \mu\text{mol/l}$ (therapeutischer Bereich $22,9\text{--}91,6 \mu\text{mol/l}$ (12)) und an Carbamazepin (4) $22,0 \mu\text{mol/l}$ (therapeutischer Bereich $12,7\text{--}50,8 \mu\text{mol/l}$ (12)). Phenobarbital ist im „Lösungsmittel-Tailing“ enthalten.

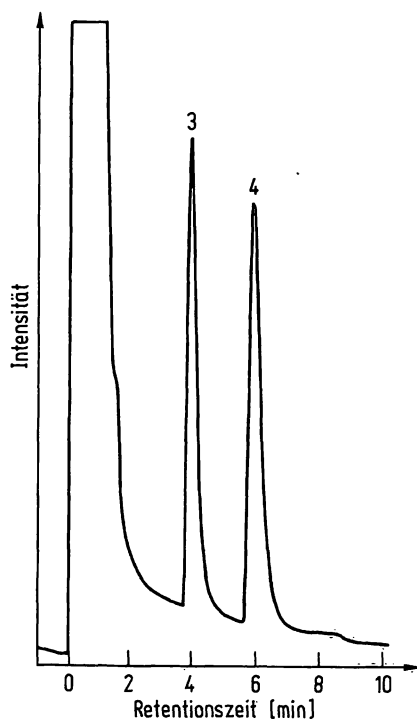


Abb. 2. Gaschromatogramm von $0,69 \text{ nmol}$ (150 ng) Primidon (3) und von $0,63 \text{ nmol}$ (150 ng) Carbamazepin (4) an Dexsil 300.

Tab. 3. 3s-Bereich bei niedriger Substanzkonzentration (Nachweisgrenze).

Substanz	Anzahl der Analysen	Sollwert	Mittelwert \bar{x}	Nachweisgrenze (3s-Bereich)	Therap. Bereich
	N	($\mu\text{mol/l}$)	($\mu\text{mol/l}$)	($\mu\text{mol/l}$)	($\mu\text{mol/l}$)
Carbamazepin	8	8,5	8,1	2,1	12,7– 50,8
Phenobarbital	8	21,5	19,4	10,3	21,5–172,3
Phenytoin	10	19,8	17,2	7,2	19,8– 99,1
Primidon	10	9,2	9,6	1,8	22,9– 91,6

selbsttätig ablaufen kann, wurde sie Monate lang ohne Veränderung ihrer Trenneigenschaften benutzt. Bei Verwendung eines mechanisierten gaschromatographischen Arbeitsplatzes entsprechen die Personalkosten grob denen, die zur Durchführung der Analyse mit Hilfe der EMIT-Tests anfallen. Dabei ist berücksichtigt, daß die gaschromatographische Methode vier verschiedene Antiepileptika im gleichen Extrakt zu messen gestattet, während der EMIT-Test nur jeweils ein Pharmakon zu bestimmen erlaubt. Die Reagentien für die gaschromato-

graphische Analyse sind vergleichsweise billig (etwa 0,35 DM je Analyse) und jederzeit verfügbar. Die Investitionskosten für einen mechanisierten gaschromatographischen Meßplatz entsprechen in der gleichen Ausbaustufe etwa denen für einen mechanisierten EMIT-Meßplatz.

Diskussion

Das beschriebene Verfahren ergibt nach einfacher Proben-
vorbereitung von störenden Verunreinigungen freie
Extrakte. Die in dieser Arbeit verwendeten stationären
Phasen waren für die verschiedenen Antiepileptica nicht
gleich gut geeignet. Phenytoin ergab unbefriedigende
Gaschromatogramme an Dextsil 300, Carbamazepin und
Primidon an SP 2250 DA. Phenobarbital kann an beiden
Systemen analysiert werden. Die Verwendung von Dextsil
300 erlaubt die zerstörungsfreie Gaschromatographie
von unverändertem Carbamazepin. Die gaschromato-
graphische Analyse wird durchgeführt isotherm ohne
Derivatbildung unter Verwendung eines Flammenioni-
sationsdetektors und bietet damit, im Gegensatz zu
anderen gaschromatographischen Verfahren, optimale
Voraussetzungen für eine Mechanisierung. Unter Aus-
schluß der Verfahren mit Derivatbildung ist dagegen bei
der Methode nach *Beam* (2) eine Temperaturprogram-
mierung vorgesehen. Carbamazepin wird nicht erfaßt.
Bei dem Verfahren nach *Bredesen & Johannessen* (3)
beträgt die Wiederfindung von Primidon lediglich knapp
50%, die Auftrennung von Primidon, Carbamazepin
und Phenytoin ist unbefriedigend. Die Bestimmung
nach *Toseland* (4) und die Weiterentwicklung dieser
Methode durch *Heipertz* (9) ist an die Verwendung
eines N-empfindlichen Detektors mit Temperaturpro-
grammierung gebunden; etwa 20% des Carbamazepin
wird während der Gaschromatographie zerstört. Von
Godolphin et al. (16) und *Hewitt et al.* (17) wird eine
neue stationäre Phase – SP 2510 DA – verwendet, die
für die gaschromatographische Bestimmung der Anti-
convulsiva besser geeignet ist als die von *Heipertz* (9)
benutzte SP 1000. Nachteilig ist, daß an SP 2510 DA
Primidon und Cholesterin gleiche Retentionszeiten
besitzen. *Godolphin et al.* (16) benutzen eine mit
SP 2250 DA gefüllte Vorsäule zur Cholesterinabtren-
nung, eine Phase, die für die Bestimmung von Carba-
mazepin und Primidon nicht geeignet ist. Die Wieder-
findung für diese Antiepileptica beträgt 80 bzw. 70%
(16). *Hewitt et al.* (17) trennen Cholesterin bei der
Probenaufarbeitung ab. Bei diesem Verfahren beträgt
die Wiederfindung von Primidon 69%, so daß mehrere
aufgestockte Leersäulen in jeder Serie zur Korrektur mit-
geführt werden müssen. Bei Verwendung eines Flam-
menionisationsdetektors bietet die Phase SP 2510 DA
somit wegen der Schwierigkeiten bei der Primidon-

bestimmung lediglich den Vorteil gegenüber der Phase
SP 2250 DA, daß Carbamazepin zusätzlich bestimmt
werden kann. Für toxikologische Analysen nach I.c.
(15) ist SP 2510 DA dagegen nicht geeignet. Steht ein
Stickstoff-empfindlicher Detektor zur Verfügung, wird
die Primidonbestimmung an SP 2510 DA durch
Cholesterin nicht gestört. In diesem Fall ist die Ver-
wendung von SP 2510 DA in Verbindung mit dem
von uns angegebenen Aufarbeitungsverfahren wegen
der konstant hohen Wiederfindung zur Bestimmung
der vier Antiepileptica isotherm ohne Derivatbildung
zu empfehlen.

Wegen der von *Curry et al.* (18) geäußerten Bedenken
wurden die vorliegenden Ergebnisse ohne Bezug auf
einen inneren Standard ermittelt. Auf Grund später
durchgeführter Analysen ist zu erkennen, daß bei
Zusatz von 5-(4'-Methylphenyl)-5-phenylhydantoin
als innerem Standard die Präzision der Phenytoinbestim-
mung noch besser wird. Der Standard eignet sich – wie
Phenytoin – nicht für die gaschromatographische Bestim-
mung an Dextsil 300.

Die Variationskoeffizienten als Maß für die Präzision
von Tag zu Tag, berechnet unter Verwendung von
Einzelwerten, sind kleiner als bei entsprechenden
EMIT-Analysen (13, 14).

Beim Patienten-Vergleich mit dem EMIT-Test liegen
die gaschromatographisch ermittelten Analysenergebnisse
für Carbamazepin im Mittel um 0,8 µmol/l niedriger,
wahrscheinlich bedingt durch die Abtrennung von
Carbamazepinepoxid, das bei der EMIT-Analyse mit-
erfaßt wird.

Die Nachweisgrenze der gaschromatographischen Me-
thode ist niedriger als die der EMIT-Tests.

Störungen z. B. durch Medikamente werden mit der
gaschromatographischen Methode eher als bei enzym-
immunologischen Verfahren erkannt.

In bezug auf die Reagentienkosten ist die gaschromato-
graphische Bestimmung billiger, die Materialien sind halt-
bar und jederzeit verfügbar. Als Vorteil der EMIT-
Methode ist anzusehen

1. daß gewöhnlich keine zusätzlichen Investitionskosten
anfallen für die Einrichtung eines Meßplatzes, der
zudem für eine Vielzahl anderer Analysen eingesetzt
werden kann, da die Meßzeit kurz ist,
2. daß technische Mitarbeiter gewöhnlich eher Kennt-
nisse in der Photometrie als in der Gaschromato-
graphie besitzen,
3. daß nur geringe Probenvolumina benötigt werden.

Danksagung

Herrn K. Petry und Herrn W. Werner danke ich für die zuver-
lässige Mitarbeit bei der Durchführung der Analysen.

Literatur

1. Roger, J. C., Rodgers, G. Jr. & Soo, A. (1973), *Clin. Chem.* 19, 590–592.
2. Beam, R. E. (1974), *Am. J. Med. Technol.* 40, 211–218.
3. Bredeisen, J. E. & Johannessen, S. I. (1974), *Epilepsia* 15, 611–617.
4. Toseland, P. A., Albani, M. & Gauchel, F. D. (1975), *Clin. Chem.* 21, 98–103.
5. Least, C. J., Johnson, G. F. & Solomon, H. M. (1975), *Clin. Chem.* 21, 1658–1622.
6. Davis, H. L., Falk, K. J. & Bailey, D. G. (1975), *J. Chromatogr.* 107, 61–66.
7. Nishina, T., Okoshi, K. & Kitamura, M. (1976), *Clin. Chim. Acta* 73, 463–468.
8. Abraham, C. V. & Joslin, H. D. (1976), *Clin. Chem.* 22, 769–771.
9. Heipertz, R., Pilz, H. & Eickhoff, K. (1977), *Clin. Chim. Acta* 77, 307–316.
10. Hill, R. E. & Latham, A. N. (1977), *J. Chromatogr.* 131, 341–346.
11. Malkus, H., Jatlow, P. I. & Castro, A. (1978), *Clin. Chim. Acta* 82, 113–117.
12. Schmidt, D. (1977), *Therapiewoche* 27, 501–510.
13. Oellerich, M., Külpmann, W. R., Haackel, R. & Heyer, R. (1977), *diese Z.* 15, 353–358.
14. Külpmann, W. R. & Oellerich, M. (1979), in Vorbereitung.
15. Büttner, J., Borth, R., Boutwell, J. H., Broughton, P. M. G. & Bowyer, R. C. (1976), *Clin. Chim. Acta* 69, F1–F17; *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 14 (1976), 265–275; *Clin. Chem.* 22 (1976), 1922–1932.
16. Godolphin, W. & Thoma, J. (1978), *Clin. Chem.* 24, 483–485.
17. Hewitt, T. E., Sievers, D. L. & Kessler, G. (1978), *Clin. Chem.* 24, 1854–1856.
18. Curry, S. H. & Whelpton, R. (1978) in *Blood Drugs and Other Analytical Challenges* (Reid, E. ed.) S. 29–41, Verlag John Wiley & Sons, New York.

Priv.-Doz. Dr. W. R. Külpmann
Institut f. Klinische Chemie
Karl-Wiechert-Allee 9
D-3000 Hannover 61